

OPTICAL ANALYZER, AUTOMATED SYSTEM, AND ANALYTICAL METHOD

Publication number: JP2002257732

Publication date: 2002-09-11

Inventor: SAASKI ELRIC W

Applicant: RES INTERNATL INC

Classification:

- international: G01N21/64; G01N21/55; G01N21/77; G01N21/78;
G01N33/02; G01N35/02; G01N35/08; G02B6/26;
G02B6/42; G01N21/64; G01N21/55; G01N21/77;
G01N33/02; G01N35/02; G01N35/08; G02B6/26;
G02B6/42; (IPC1-7): G01N21/64; G01N21/78;
G01N33/02; G01N35/02; G01N35/08

- european: G01N21/55B2; G01N21/77B; G02B6/26B;
G02B6/42C3B; G02B6/42C6

Application number: JP20010063210 20010307

Priority number(s): US20010265605P 20010202

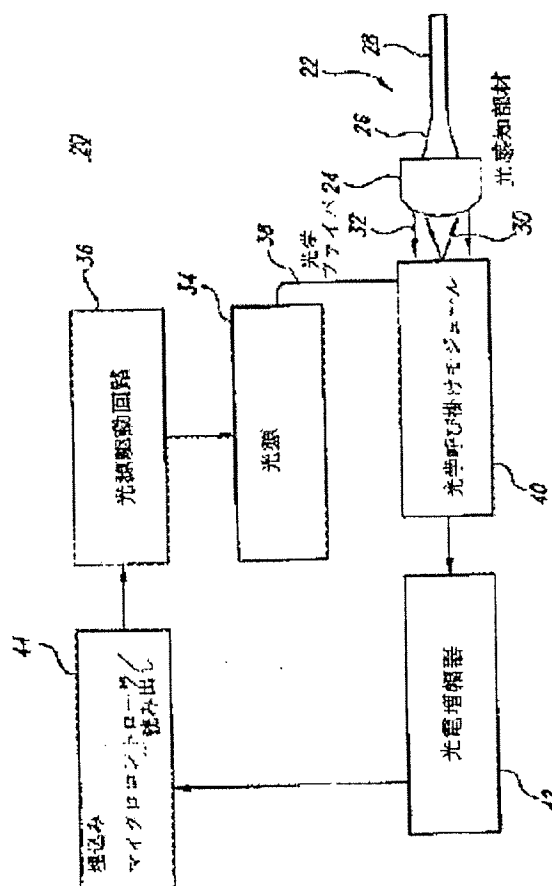
Also published as:

WO02063349 (A2)

Report a data error here

Abstract of JP2002257732

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an optical analyzer having a light source module and an optical sensor. **SOLUTION:** This optical analyzer is provided with the light source module having a light source 24, and operable to generate a beam directed to an angle within a prescribed angle with respect to the analyzer, the optical sensor 22 coupled to the light source module, having a beam redirection portion and a sensing fiber portion, receiving the beam generated by the light source module with the beam redirection portion, operable corresponding thereto to supply the beam toward the sensing fiber portion at a substantially fixed angle so as to generate an evanescent electric field, and collecting light emitted in response to a sample by the sensing fiber portion, and a questioning device 40 coupled optically to the optical sensor, and operable to receive the light emitted from the sample and collected.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-257732

(P2002-257732A)

(43)公開日 平成14年9月11日(2002.9.11)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	データベース*(参考)
G 0 1 N 21/64		C 0 1 N 21/64	G 2 G 0 4 3
21/78		21/78	C 2 G 0 5 4
33/02		33/02	2 G 0 5 8
35/02		35/02	F
35/08		35/08	E
審査請求 有 請求項の数20 O L (全 22 頁)			

(21) 出願番号	特願2001-63210(P2001-63210)	(71) 出願人	501091556 リサーチ・インターナショナル・インコーポレーテッド Research International, Inc. アメリカ合衆国、ワシントン州 98072、 ウッドインビル、ワンハンドレッドフォー ティセカンド・アベニュー・エヌイー 18706
(22) 出願日	平成13年3月7日(2001.3.7)	(74) 代理人	100058479 弁理士 鈴江 武彦 (外4名)
(31) 優先権主張番号	60/265605		
(32) 優先日	平成13年2月2日(2001.2.2)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

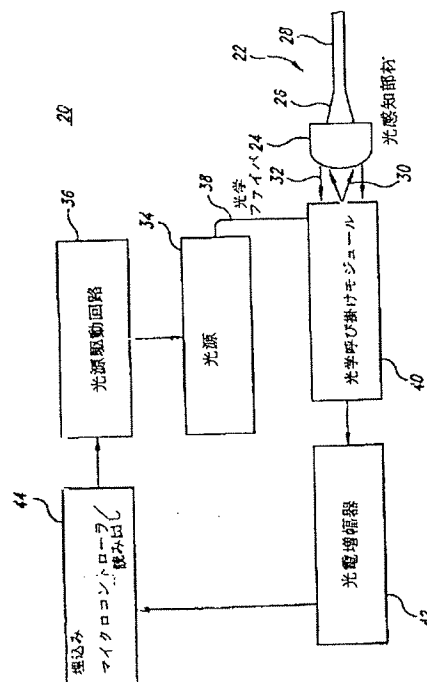
[最終頁に続く](#)

(54) 【発明の名称】 光学的分析装置、自動化されたシステム、及び分析方法

(57) 【要約】

【課題】光源モジュールおよび光学センサーを有する光学的分析装置を提供する。

【解決手段】光学的分析装置は、光源２４を有し、分析装置に対して所定の範囲の角度に指向された光線が発生するように動作可能な光源モジュールと、この光源モジュールに光学的に結合され、かつ、光線再指向部分と感知ファイバー部分とを有し、この光線再指向部分が前記光源モジュールにより発生された光線を受光し、これに対応してほぼ一定の角度で感知ファイバー部分に向けて光線を供給して対応するエバネセント電界を発生させるよう動作可能であり、前記感知ファイバー部分が、サンプルと応答して射出された光を収集する、光学センサー２２と、この光学センサーに光学的に結合され、サンプルから射出されて収集された光を受けるように動作可能な質問装置４０とを具備する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 サンプル中の分析対象を検出するための光学的分析装置であって、約600ないし約700nmの範囲で動作する光源を有し、分析装置に対して所定の範囲の角度に指向された光線が発生するように動作可能な光源モジュールと、

この光源モジュールに光学的に結合され、かつ、光線再指向部分と感知ファイバー部分とを有し、この光線再指向部分が前記光源モジュールにより発生された光線を受光し、これに対応してほぼ一定の角度で感知ファイバー部分に向けて光線を供給して対応するエバネセント電界を発生させるよう動作可能であり、前記感知ファイバー部分が、サンプルと応答して射出された光を収集する、光学センサーと、
この光学センサーに光学的に結合され、サンプルから射出されて収集された光を受けるように動作可能な質問装置とを具備する装置。

【請求項2】 前記光源は、ソリッドステートデバイスを有する請求項1に記載した装置。

【請求項3】 前記光源は、レーザーダイオードを有する請求項1に記載した装置。

【請求項4】 前記レーザーダイオードは、633nm、635nm、638nm、640nm、645nm、650nm、655nm、658nm、670nm、675nm、680nm、685nmおよび690nmのうちの少なくとも1つの波長で動作する請求項3に記載した装置。

【請求項5】 前記光源は、約600～約700nmの範囲での吸光度を有するフルオロフォアを励起する請求項1に記載した装置。

【請求項6】 前記フルオロフォアは、約600～約800nmの範囲にある波長で発光する請求項5に記載した装置。

【請求項7】 前記質問装置は、ソリッドステートの光検出器を有する請求項1に記載した装置。

【請求項8】 前記質問装置は、フォトダイオードを有する請求項1に記載した装置。

【請求項9】 さらにフィルターを具備する請求項1に記載した装置。

【請求項10】 前記フィルターは、レーザー線減衰フィルター膜、ロングパスダイクロイックフィルター、スペクトル吸収フィルター、着色ガラスフィルター、着色ポリマー、およびロングパスフィルターを提供するフィルター膜とバルクフィルターとの組み合わせのうちの少なくとも1つである請求項9に記載した装置。

【請求項11】 前記フィルターは、光源波長での約99.9%の射出以上をブロックする請求項10に記載した装置。

【請求項12】 前記フィルターは、光源出力よりも約25nm以上長い波長において約50%以上透過性を有

する請求項10に記載した装置。

【請求項13】 前記光源は、約600ないし約700nmの範囲での吸光度を有するフルオロフォアを励起する請求項10に記載した装置。

【請求項14】 前記フルオロフォアは、CY5、アレクサ・フリュオー660、アレクサ・フリュオー680、およびアルミニウムフタロシアニンのうちの少なくとも1つである請求項14に記載した装置。

【請求項15】 前記光源は、フルオロフォア当たり最大の信号を発生するよう選択された波長においてフルオロフォアを励起する請求項10に記載した装置。

【請求項16】 請求項1ないし15のうちいずれか1項に記載した装置を有する自動化されたシステム。

【請求項17】 所定範囲の伝播角度を有する光を発生するように動作可能な光源モジュールと、

この光源モジュールにより発生された光を受光するように動作可能であり、また、光調節部分と分析感知部分とを有するセンサーとを具備し、

前記光調節部分は、前記光源モジュールにより発生された光を受けて、実質的に一定の伝播角度の光を分析感知部分に供給し、また、前記分析感知部分は、導波路を有し、この導波路は、センサー分子のコーティングを有し、実質的に一定の伝播角度を有する光は、前記導波路を通して、センサー分子のコーティング内にエバネセント電界を発生させる、自動化されたシステム。

【請求項18】 前記光源モジュールは、約600ないし約700nmの範囲で動作する光源を有する請求項17に記載したシステム。

【請求項19】 前記光源は、ソリッドステートデバイスを有する請求項17に記載したシステム。

【請求項20】 前記光源は、レーザーダイオードを有する請求項17に記載したシステム。

【請求項21】 前記レーザーダイオードは、633nm、635nm、638nm、640nm、645nm、650nm、655nm、658nm、670nm、675nm、680nm、685nmおよび690nmのうちの少なくとも1つの波長で動作する請求項20に記載したシステム。

【請求項22】 前記光源は、約600～約700nmの範囲での吸光度を有するフルオロフォアを励起する請求項17に記載したシステム。

【請求項23】 前記フルオロフォアは、約600～約800nmの範囲にある波長で発光する請求項22に記載したシステム。

【請求項24】 質問装置がソリッドステートの光検出器を有する請求項17に記載したシステム。

【請求項25】 質問装置がフォトダイオードを有する請求項17に記載したシステム。

【請求項26】 さらにフィルターを具備する請求項17に記載したシステム。

【請求項27】 前記フィルターは、レーザー線減衰フィルター膜、ロングパスダイクロイックフィルター、スペクトル吸収フィルター、着色ガラスフィルター、着色ポリマー、およびロングパスフィルターを提供するフィルター膜とバルクフィルターとの組み合わせのうちの少なくとも1つである請求項26に記載したシステム。

【請求項28】 前記フィルターは、光源波長での射出の約99.9%以上をブロックする請求項26に記載したシステム。

【請求項29】 前記フィルターは、光源出力よりも約25nm以上長い波長において約50%以上の透過性を有する請求項26に記載したシステム。

【請求項30】 前記光源は、約600ないし約700nmの範囲の吸光度を有するフルオロフォアを励起する請求項26に記載したシステム。

【請求項31】 前記フルオロフォアは、CY5、アレクサ・フリュオー660、アレクサ・フリュオー680、およびアルミニウムフタロシアニンのうちの少なくとも1つである請求項30に記載したシステム。

【請求項32】 前記光源は、フルオロフォア当たり最大の信号を射出するよう選択された波長においてフルオロフォアを励起する請求項26に記載したシステム。

【請求項33】 システムが浸水型のプロトコルを使用して分析を実行する請求項17に記載したシステム。

【請求項34】 前記センサーは、溶液から溶液へと移動する請求項17に記載したシステム。

【請求項35】 分析が蛍光免疫分析である請求項33に記載したシステム。

【請求項36】 さらに、複数のセンサーを有する光学モジュールを具備する請求項17に記載したシステム。

【請求項37】 前記複数のセンサーは、放射状に対称に配置されている請求項36に記載したシステム。

【請求項38】 前記複数のセンサーは、直線的に配置されている請求項36に記載したシステム。

【請求項39】 前記複数のセンサーは、キャリヤプレートに装着されている請求項36に記載したシステム。

【請求項40】 前記複数のセンサーとキャリヤとは、成型部分を有している請求項39に記載したシステム。

【請求項41】 前記光学モジュールは、複数の複数のサンプルステーション間で移動するロボットステージに装着されている請求項36に記載したシステム。

【請求項42】 前記ロボットステージは、複数のサンプル間で移動する2軸方向ステージを有する請求項41に記載したシステム。

【請求項43】 前記ロボットステージは、複数のサンプル間で移動する3軸方向ステージを有する請求項41に記載したシステム。

【請求項44】 各ステーションは、分析に要求される溶液のためのコンテナを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項45】 各ステーションは、すべてのセンサーを1つの溶液に晒すためのコンテナを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項46】 各ステーションは、それぞれのセンサーを異なる溶液に晒すための個々のコンテナを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項47】 各ステーションが、光封止シールを形成するためのバッフルを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項48】 質量輸送の促進により結合速度が増大する請求項17に記載したシステム。

【請求項49】 質量輸送の促進が、センサーをセンサーの長軸に対して直角方向に溶液中で振動させることにより得られる請求項48に記載したシステム。

【請求項50】 質量輸送の促進が、溶液を回転させてセンサーの長軸に対して直角の流れを提供することにより得られる請求項48に記載したシステム。

【請求項51】 センサーを大容量のサンプル溶液に晒すことにより希釈分析対象にとってサンプリング統計値および明白な分析感度が向上する請求項17に記載したシステム。

【請求項52】 各サンプルステーションは、単一容積のコンテナを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項53】 各サンプルステーションは、センサーを通り過ぎるように溶液を回転させる外部ドライブにより回転するカップを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項54】 溶液が内部のスターラーにより回転させられる請求項41に記載したシステム。

【請求項55】 各サンプルステーションは、環状の容積を有する環状のコンテナを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項56】 各サンプルステーションは、センサーを通り過ぎるように溶液を回転させる外部ドライブにより回転するカップを有している請求項55に記載したシステム。

【請求項57】 各サンプルステーションは、多数のサンプルを同時に分析するための多数のコンテナを有している請求項41に記載したシステム。

【請求項58】 手動式および自動式の流体工学構成要素の中から選択される方法により溶液がステーションから除去することおよび加えることがなされる請求項41に記載したシステム。

【請求項59】 請求項1に記載した装置を使用し、ある物質についてサンプルを分析する方法。

【請求項60】 物質がヒト病原である請求項59に記載した方法。

【請求項61】 サンプルが食品サンプルである請求項59に記載した方法。

【請求項62】 請求項17に記載したシステムを使用し、ある物質についてサンプルを分析する方法。

【請求項63】 物質がヒト病原である請求項62に記載した方法。

【請求項64】 サンプルが食品サンプルである請求項62に記載した方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、一般的に化学および生化学分析のための光学的方法および装置に関し、さらに特定すると、このような分析のための光ファイバーを基本とした方法と装置に関する。

【0002】

【発明の背景】ヒトの病原因および食品、水、環境中の毒素を検出するための高感度でかつ特異的な技術が必要とされている。ミルクや血液、汚水、肉製品のような自然界における溶液中に含まれる有機物を効果的に低濃度で検出すること、および病原性のものと無害なものとを区別することは非常に困難である。従来の生物学的分析方法は、通常、数立方センチメートルのオーダーのサンプル用に設計されており、多量の試料から病原物質を抽出または濃縮することにより必要な感度に合わせる事が付加的な作業課題となっている。

【0003】未加工で未精製の病原を分析することを達成するために最も見込みのある策略の1つは、生物学的なリガンド-受容体相互作用を利用して特定の化合物を識別するセンサーを基本としたものである。そのような策略を実施する解決法の例には、光ファイバーのエバネセント波センサー、および表面プラズモン共鳴センサーが含まれる。

【0004】ある物質中を通過して誘電性の界面で反射される電磁波は、その界面の反対側にある第2の物質中で指数関数的に減衰する電界を生じる。光周波数においては、これはエバネセント波効果と称され、無線周波数においては、この現象はしばしば“スキニング効果”と呼ばれている。第2の物質中への浸透深さであるエバネセント波領域は波長のごく一部ではあるが、それでもサイズとしては光または蛍光を生じるレポーター分子、光吸収しないし散乱分子、およびコロイド粒子やミクロスフィアのような光学的ラベル物質よりも大きい。これらのラベルはエバネセント領域において光学的変化を発生またはモニターすること、あるいは隣接する誘電体における光の伝播を変更させるために使用することが可能であり、表面近傍にあるターゲット物質を、遠くにあるそれとは違って、検出する基礎的な手段を提供するものである。特に、この界面を顕微鏡的に特異的な捕捉剤または目的の分子ターゲットでコーティングすることにより、非常に高感度な光学センサーが作製可能となる。

【0005】ある競合的分析技術では、検査対象試料と共に使用されるフルオロフォアをラベルした抗原104

がファイバー上にコーティングされた捕捉抗体に晒され、抗体結合部位に対して、ラベルした抗原が試料中の非標識分析対象106と競合する。ファイバー102を通過する光108により発生するエバネセント電界はその後フルオロフォアを励起して発光110を生じさせ、ファイバーそのものは都合良く蛍光信号のための帰還用導波路の役割りを果たす。この例では、蛍光信号の強度は検査試料中の分析対象濃度に反比例する。また別の選択肢では、試料中の分析対象物の濃度に蛍光信号が直接的に関与するサンドイッチ形式のような非競合的技術が使用可能である。キレート剤、抗体、クラウンエーテル等々のようなターゲットに特異的な物質が適切なルミネッセンス、蛍光、または別の導波路による光輸送体と組み合わせられて使用されることにより、金属、毒素、蛋白質、ウイルス、生または死状態のバクテリア、および胞子を広範囲において高感度にかつ特異的に検出することが可能となる。微量の病原を検出する応用では、捕捉物質がターゲット物質に結合することにより中和されるまでセンサーが活性状態を維持するため、1回の分析当たりのコストは低くなる。

【0006】表面プラズモン共鳴感知として、図1

(B)においてクラッド層116を除去した光ファイバー114のコア部分112に装着した金などの金属薄膜110が示されている。ファイバー114を通る光118により発生するエバネセント電界は金属110の外側表面において白色光がファイバー114を通過するとき、表面プラズモン波の励起はファイバーを通る光スペクトルのディップを引き起こし、このディップが生じる共振波長はファイバーコア、金属層、およびファイバー周囲の溶液の複合屈折率、および光の入射角度の関数である。ファイバー114を通る光はミラー122によりはね返されるかまたは、(ミラーがない場合)ファイバー末端を通りぬけて、当該技術に従事する者にはよく知られているが、光学的処理や分析に寄与する。溶液の屈折率変化はすべて検出可能であり、金属110に結合した分子の屈折率がバルク溶液と異なった場合、それを検出することができる。金属層110をターゲットに特異的な捕捉物質(図示せず)でコーティングすることにより、これが試料液中の分析対象ターゲットに反応し、金属表面上における(抗原-抗体反応および酸化還元反応のような)反応を検出することが可能となる。

【0007】光ファイバーエバネセント波センサーは、ここで参考資料として開示を採用した以下の米国特許の主題となっている。Hirschfeldらの“Fluorescent Immunoassay Employing Optical Fiber in Capillary Tube”というタイトルの米国特許4,447,546、Hirschfeldらの“Assay Apparatus and Method”というタイトルの米国特許4,558,014、Blo

ckらの“Apparatus Including Optical Fiber for Fluorescence Immunoassay”というタイトルの米国特許4,582,809、Hirschfeldの“Apparatus for Improving the Numerical Aperture at the Input of a Fiber Optic Devices”というタイトルの米国特許4,654,532、Blockらの“Fluorescent Assays, Including Immunoassays, with Feature of Flowing Sample”というタイトルの米国特許4,716,121、Blockらの“Immunoassay Apparatus”というタイトルの米国特許4,909,990、Hirschfeldの“Nucleic Acid Assay Method”というタイトルの米国特許5,242,797、Thompsonらの“Waveguide-Binding Sensor for Use With Assays”というタイトルの米国特許5,061,857、Andersonらの“Mode-Matched, Combination Taper Fiber Optic Probe”というタイトルの米国特許5,430,813、Lackieの“Immunoassay Apparatus”というタイトルの米国特許5,152,962、Feldmanらの“Synthesis of Tapers for Fiber Optic Sensors”というタイトルの米国特許5,290,398、そしてFeldmanらの“Optical System for Detection of Signal in Fluorescent Immunoassay”というタイトルの米国特許5,399,866である。光ファイバー表面プラズモン共鳴センサーは、Jorgensonらの“Fiber Optic Sensor and Methods and Apparatus Relating Thereto”というタイトルの米国特許5,359,681において主題とされており、その開示はここで参考資料として採用している。

【0008】エバネセント波センサーとしては、エバネセント電界の最適化および検出蛍光の帰還経路の光学特性の最適化が望まれている。上述の特許には数多くの最適化手法が述べられており、その中には種々のシステム構成要素の開口数をマッチさせようという試みやシステム開口数を改善しようという試みが含まれている。開口数はシステムの光学軸に関するシステムを透過する光線の有する最大角度の指標となる。光学システムのそれぞれの構成要素は独自の限定された開口数を有しており、最も低い開口数を有するシステム構成要素によって最大のシステム開口数が決定される。システムの開口数

は光感知のキーとなるパラメータである。なぜなら移送されるパワーは、殆どの場合においてその二乗に比例するからである。すぐれた設計の実施形態とコスト効率の面からシステムの構成要素が開口数のマッチングをもつことが要求される。

【0009】開口数のマッチングをとるための1つのよく知られた手法は、テーパーをつけるかまたは円錐形状にした導波路を採用することである。開口数のマッチングをとることに付け加えて、光ファイバーの活性で分析対象感受性部分をテーパー化することが入射光の実質的部分をほぼ臨界角に保ち、それによって大きなエバネセント界を維持する。しかしながら、このテーパーが微弱に導入された光線に作用して臨界角を超えさせてしまつて、ファイバーに沿って一定の損失を生じることもある。

【0010】表面プラズモン共鳴センサーに接続して使用される光ファイバーにおいて白色光を伝播させるためには、ファイバーは最大波長の光を支えるために充分な大きさの直径を有する必要がある。また、大きな直径のファイバーは開口数の高い光を伝播するため、従来プロセスで容易に成膜できる厚さの金属膜において表面プラズモン波の励起をし易くできる。結果として、ある角度範囲にわたって光を伝播するマルチモードのファイバーが使用される。しかしながら、この角度範囲は共鳴効果を損なう結果となる。なぜならそれぞれの角度の伝播のために異なる共振波長となるからである。

【0011】図2(A)に、シリカ製の光ファイバーコアに厚さ55nmの金の層を施して水中に浸したときのファイバーコアの光軸に関してさまざまな伝播角度における理論的共鳴曲線を示した。全体の検出共鳴は種々の伝播角度それぞれの共鳴効果を重畳したものである。図2(B)には、種々の伝播角度における光パワーのサイン2乗分布を仮定したときの角度0~23.6°における各理論的共鳴の集積曲線を示す。表面プラズモン共鳴感知への電流接近に伴う顕著な信号減衰が図2(B)の共鳴曲線と図2(A)の、例えば23.6°の共鳴曲線を比べると見受けられる。

【0012】1980年代初期に記述された最初のエバネセント導波路センサーは実質的に円筒状導波路、すなわち、断面が円形でその全断面エリアに光が均一に満たされているものであった。最近の開発は平行化した光ビームによりプレーナ型の導波路を励起するものが強調されてきた。これらのデバイスでは光は1方向のみしか含まず、側部方向への広がりとは全体的に励起光学機器により規定される。この実質的なシフトは、光ビームの照射経路にあるプレーナ型導波路表面において捕捉物質の複数スポットの直線または2次元パターンを映し出し、それによりそれぞれの分析対象に特異的なスポットを平面型導波路のもう一方の側にあるCCD検出アレイまたは光増倍管によりモニターすることによる複数分析対象の

実現を目的とすることによるものである。

【0013】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、プレーナ型の手法は光導波能力が限定されることに加えていくつかの他の弱点を有する。殆どの場合、個々の分析スポットのサイズが小さいためにそれぞれのドットを完全に液体サンプルに効果的に接触させることが課題となる。これは食品の病原検査をするときにとりわけ顕著になる。非常に低レベルの病原物質でも健康に対する危険性が高いため、法規制で300立方センチメートルまたはそれ以上のサンプル分析を使用することが要求される。例を挙げると、*Escherichia coli* O157:H7についてUS Department of Agricultureが設定している許容限度は25gのサンプル中で1菌体までである。このような低濃度の有機体を典型的には1mm²またはそれ以下の生物学的分析のドットに基づいた方法で効果的に検出することは非常に困難である。加えて、生の食品サンプルを検査するときにはサンプルの異質性が問題となる。脂質粒およびその他の非毒性成分がセンサーに非特異的に付着することやターゲットとの接触を物理的にブロックすることにより効果的検出感度を低下させることがある。また、サンプルが粘性であって物質移送境界層を厚くし、拡散による物質の移動速度を低下させることもある。これらの因子により得られる信号レベルが低下し、ターゲットの量が低いにもかかわらずヒトや動物の病原が致死濃度であるという信頼性のない統計値になることがある。

【0014】また、分析対象物質拡散の境界層は殆どの場合、円筒形のような回転体にとってよりもプレーナ型構造にとってより厚くなる。その理由として、分析にサンドイッチ免疫分析法のような多段階のプロトコルが含まれている場合、あるいはセンサーを再使用する必要がある場合、プレーナ型の幾何構造はよりクリーニングが困難なためである。最後に、食品安全のような用途にとってターゲットとなる病原はわずか1〜6種類であり、最先端でコスト高となりがちなCCDや光増倍管信号回収技術を必要とする低感度のアレイ技術の価値は疑問視される。

【0015】エバネセント波および表面プラズモン共鳴センサーは医療および食品安全への用途に見込みがあるが、当該技術に携わる者であれば現在の技術が上述の欠点を含めていくつかの注意点において最適でないことを理解できる。

【0016】

【課題を解決するための手段】本発明によると、光学的分析装置は光源モジュールと光学センサーとを有している。光源モジュールはある伝播角度範囲を有する光を発生させる。この光学センサーは光調節部分と分析感知部分とを有している。光調節部分は光源モジュールで発生

した光を受け、分析感知部分に対して実質的に一定の伝播角度を有する光を供給する。

【0017】ある実施形態では、光源モジュールはより低い、ゼロではない限界の伝播角度からの範囲を有する光を発生する。これはこの限界以下の伝播角度の光をブロックすることで達成可能である。ある実施形態ではセンサーの光調節部分は光源モジュールで発生した光を入射光として受け、実質的に一定の伝播角度を有する光を反射光として生み出す。センサーの分析感知部分はエバネセント波感知動作に適したセンサー分子でコーティングされた導波路、または表面プラズモン共鳴感知動作に適した金属薄膜でコーティングされた導波路であってもよい。

【0018】ある実施形態では、導波路が集積化されたウィンドウを有する質問装置によって光源モジュールに結合されることも可能である。導波路は光源モジュールで発生した光をセンサーに送信する。この導波路は光ファイバーであって末端が直角リフレクタを形成するように角度を付けられることも可能である。導波路は、導波路から質問装置の光学部品に入射する励起光の後方散乱を防ぐために不透明な材料を有する溝のウィンドウに設置することも可能である。

【0019】ある実施形態では、センサーが二次元または三次元の動きをし、それにより連続的に溶液に浸して特殊な分析プロトコルを実現できるように自動型分析プラットフォームにセンサーと質問装置が装備される。センサーが特定の溶液中に浸されている間、システムはセンサーの振動運動および/または接触溶液の回転運動を供給してエバネセント波領域のターゲット分析対象および/または薬剤との反応を促進する。

【0020】

【発明の実施の形態】本発明のさまざまな実施形態を完全に理解できるように特定の詳細説明をもって光学的分析装置および方法を説明する。しかしながら、当該技術に携わる者であれば本発明がこれらの詳細とは異なる形態で実施可能であることを理解するであろう。他の例については、本発明の実施形態の説明が不明確になるのを避けるため、よく知られている構造や動作は示さないかまたは検討を入れていない。

【0021】図3は分析システム20を示す機能ブロックダイヤグラムである。光感知素子(センサー)22は、下記にさらに詳細を記述するが、レンズ部分24、リフレクタ部分26、および感知導波路、即ちファイバー部分28を有している。この光感知素子22は励起光30を受け、信号回収光32を返す。励起光30は駆動回路(光源駆動回路)36の制御下において光源モジュール(光源)34により発生される。光源モジュール34は、導波路、即ち供給源ファイバー38のような光ファイバーを経由して励起光を供給する。光学的質問装置(光学呼び掛けモジュール)40は信号回収光32を受

け、さらに都合のよいことに感知素子22と供給源ファイバー38とを経由して送信された励起光とを光学的に結合させる。光学的質問装置40はレンズのような光学装置と光検出器のような変換器とを有しており、信号回収光32に関数として関連した電気信号を生み出す。この電気信号は光電流増幅器（光電増幅器）42により増幅され、これが増幅信号をマイクロコントローラ44に供給する。そのあとマイクロコントローラ44は、この増幅信号を解析して感知動作結果を読み出しまたはプリントアウト、または後の解析のために貯蔵する形で供給する。また、マイクロコントローラ44は光源駆動回路36の動作を制御することも可能である。

【0022】当該技術に携わる者であれば、図3に示された分析システムが構成と機能のよく知られた構成要素を示す簡便化したブロックダイアグラムであることが判るであろう。光源モジュール34、光学的質問装置40、および感知素子22に関する詳細は本発明のさまざまな実施形態とつながりを持たせて以下に説明する。図3に示されている他の機能ブロックに関してさらに詳細説明することは、当該技術に携わる者が本発明を実行する上で必要のないことである。

【0023】図4は図3の光源モジュールの部分を示したものである。この図は光学軸45に沿った断面を示している。レーザーダイオードのような光源46が、ウィンドウ50を有する供給源ハウジング48内部に収容されている。このレーザーダイオード46は、励起光30を発生し、この励起光は、開口数調節レンズ52によって供給源ファイバー38の端部51上に焦点合わせされる。この供給源ファイバー38は、光ファイバーフェルル39により保持され、ファイバーの端部51が開口数調節レンズの焦点になるよう位置決めされる。それから供給源ファイバー38は励起光を、例えば図3に示した感知素子22に移送する。

【0024】ある実施形態では、レーザーダイオード46は市販の可視光レーザーダイオードであり、規格の9mmパッケージ型で、600～700nm帯域で動作し、平均パワー1mWまたはそれ以上を出力するものである。開口数調節レンズ52は直径3mm、0.25ピッチ勾配屈折率（GRIN）型レンズである。供給源ファイバー38はコア直径200ミクロンの光ファイバーであり、好ましくはガラスまたは石英のような自己蛍光発光が最小限で散乱損失の小さい伝送材料により作製されたものである。しかしながら、プラスチックファイバーや他の導波路も、特に、光源モジュール34から感知素子（部材）22（図3参照）までの距離が数メートル以下の場合には適合可能である。この実施形態では、GRINレンズは開口数およそ0.4ないし0.6のレーザーダイオードを、比較的低い石英ファイバーの最大開口数を保ちながら、約0.22に変換する。透過性の薄い（約0.15mm）ガラス円板54が透明接着剤によ

りGRINレンズ52に接着されており、これは光学軸45に軸対称で配置された直径約0.75mmの円形遮光部56を有している。遮光部56の効果は供給源ファイバー38に伝播角度の小さい光線が入射するのを除去することである。供給源ファイバー38が内部的なモード変換を生じるほど曲げられず、多数の散乱中心を含んでいない場合、ファイバー内の光はファイバーに入射した光と同じ角度特性を有する。

【0025】図5は、遮光部56がある場合とない場合について、供給源ファイバー38から出る光の角度分布測定結果を示したグラフである。これらの測定結果は上述した特定の構成の光源モジュール34と供給源ファイバー38に対応している。明らかに、遮光部56は低い伝播角度の光線を大幅に削減した光の角度分布を提供しており、その利点はこれ以降の検討の中で明確になるであろう。便宜的に表示する目的で、光学軸45（図4参照）に相関する伝播角度は図5のグラフでは開口数の値で表わしている。

【0026】図6（A）は供給源ファイバー38を通してファイバーの端部59に形成された直角リフレクタ58に向かう励起光30を示している。その後、励起光30は感知素子22のレンズ部分24に入射し、反射部26のリフレクタ表面27で反射し、感知ファイバー28に入射する。感知ファイバー28はクラッド層を除去した光ファイバーのコア部分であってもよい。別の選択肢では、感知ファイバー28はプラスチックファイバーまたは適切に適合された数ある導波路構造のいずれかであってもよい。

【0027】図6（B）は、エバネセント界誘導による蛍光などの信号回収光32が感知ファイバー28を通り、リフレクタ26で反射し、レンズ24で屈折し、ウィンドウ60を通して質問装置40（図3も参照）に返ってくるのを示したものである。いったん質問装置40内に入ると、信号回収光32はサファイアボールレンズ62のようなレンズによって光検出器64などの変換器に焦点を絞られる。

【0028】図7（A）は質問装置ウィンドウ60の1つの実施形態のさらに詳細を示したものである。供給源ファイバー38の末端59は45°の角度でミラー仕上げに研磨され、反射膜61がコーティングされて直角リフレクタ58を形成している。供給源ファイバー38のこの部分は、詳細を説明するが、質問装置ウィンドウ60の中に集積化されている。直角リフレクタ58は、供給源ファイバー38内の光がウィンドウ60から通常はウィンドウ表面に直角に、例えば開口数0.22でもって浮き出てくるように設置される。

【0029】質問装置ウィンドウ60はレーザー線拒絶フィルター膜66をガラス板67の片面に成膜されて有している。このフィルター膜66の根本的な機能は励起光30に伴う揺らぎ光が質問装置40に含まれる光学

部品に到達するのをすべて排除し、より長波長の蛍光信号回収光32(図6(A)および6(B)参照)が妨害を受けない経路を提供することである。励起源およびブロッキングフィルタの選択は信号の回収に密接に関連しており、これに関しては後ほど検討する。例えば、直径約1.5mmの円形の遮光形状68がフィルター膜66の外側表面に塗布またはコーティングされている。この遮光部68は、感知素子22のレンズ部分24で反射される後方反射励起光30をすべてブロッキングすることによりフィルター膜66を増強している。

【0030】図7(A)および7Bの両方によると、溝70はフィルター膜66と反対側のガラス板67に切り込まれている。この溝は高速の水冷式ダイヤモンドソーで切り込むことができる。溝70は高い不透明さを有する、Epoxy Technologies of Billerica, Mass. の320エボキシのような材料72を充填される。第2の、供給源ファイバー38の幅と同じの、より狭い溝74は不透明材料72内で、溝74の長さに沿った全部分で不透明材料72を突き破らないよう配慮した位置に設けられる。それから供給源ファイバー38が、正しい位置で正しい方向に光射出するように溝74に配置され、そして薄いガラスカバー板76が溝のウィンドウ面に押し付けられてファイバーの位置を保持する。それから、UV接着剤P92(Summers Optical of Fort Washington, PA)のような透明材料が、捕捉された供給源ファイバー38の空間にしみ込まされて空気を除去し、接着剤が硬化される。

【0031】接着剤とカバー板76の両方は供給源ファイバー38のクラッド層と殆ど同じ屈折率をもつように選択され、ビームの収差を最小にする。励起光30は、直角リフレクタ58からの反射した上で供給源ファイバー38の円筒状の壁を通過する必要がある、さもないとファイバーの壁が円筒形レンズとして作用し、射出励起光ビームの形状を歪める。不透明材料72は、遮光部68と共に、直角リフレクタ58における欠陥から洩れるかまたは、励起光30が感知素子22のレンズ部分24に最初に入射する場所で反射されるあらゆる励起光を吸収する。

【0032】図3、6(A)、および6(B)と関連付けて以上に検討してきた感知素子22は、ポリスチレンなどの射出成型により単一片として形成可能である。図6(A)に示すように、感知素子22に入射する励起光30は最初にレンズ部分24の表面に遭遇し、これは球面状または放物面状のようないくつかの適切な構成のいずれでもよい。レンズ部分24の根本的な機能は図6(B)に示したように、信号回収光32を平行化することである。しかしながら、レンズ部分24は励起光30に関して、励起光の実効的部分を光学軸45に移す二次的な役割をも果たす。

【0033】現在の技術の状態と関連させて以上に説明したように、励起源から供給された光は平衡化した分布の伝播角度から成り、テーパ化したファイバーの断面がしばしば開口数を液体サンプルに浸されたときの感知ファイバーと適合するようにマッチングさせるのに使用される。しかしながら、大部分の光線の角度特性がエバネセント電界強度に対して微弱にしか寄与しないので、この手法は入力エネルギーを顕著に浪費する。他の試みはテーパを感知ファイバー全長に沿って使用するものであり、それにより低い伝播角度の光線をファイバーに沿ったいくつかの場所においてエバネセント電界に寄与するような高い伝播角度の光線に変換する。しかしながら、これらの低角度の光線のために、最初から高い伝播角度を有する光線が損失とならざるを得ない。伝播角度の低い光線をファイバーのテーパによって連続的にグレードアップすることはファイバーの長さに沿って励起光が洩れ出るという不利益によって得られるのである。これは分析感度がファイバーに沿って変化することを意味するものであり、これがキャリブレーションの問題を引き起こす。また、ファイバーから外面のサンプルへの光の漏出は結合しているフルオロフォア単独ではなく、サンプル自体の蛍光励起につながり得るものである。

【0034】理想的には、すべての入射励起光が感知ファイバーの臨界角に非常に近いものであり、エバネセント電界強度を最大化し、それによってファイバーに結合したあらゆるフルオロフォア分子による蛍光を最大化すればよい。また、感知ファイバーが、単位長さ当たりの感度を一定に保つように本質的に直径が一定であり、外部環境への光の漏出が最小になればよい。実際上の問題として、射出成型による作製のような製造プロセスの結果としてわずかにテーパのある感知ファイバーとなる必要がある。典型的には、約0.02°のこのテーパは射出鋳型から欠陥を形成させずにファイバーを取り出すのに充分であり、このようなテーパは本質的に光学的効果において無視できるものである。本発明の実施形態は殆ど理想的な条件を提供できるものであり、根本的に感知素子22のリフレクタ部分26の特性に帰するものである。

【0035】図6(A)によると、リフレクタ部分26の反射表面27は、供給源ファイバー38の端部から射出されるすべての光線が感知素子22の光学軸45に相関して同じ角度で反射されるように作製されている。言い換えると、感知ファイバー28内のすべての光線は同じ伝播角度を有しており、これはエバネセント波に基づくセンサーにとって高度に望ましい特徴である。光源(すなわち供給源ファイバー38の端部にある直角リフレクタ58)はほぼ点光源であり、その光源から射出される光の角度分布がある制限値(下記で検討)になると仮定すると、必要とされる反射表面27の形状は数学的に容易に導き出せる。実際的には、ファイバーはコアの

直径が3ミクロンの小ささまで入手できるため、点光源を要求することは困難な条件ではなく、また感知素子22の相対的サイズを単純に大きくすることも可能である。実際問題として、実験を通して感知ファイバー28の直径が供給源ファイバー38のそれのおよそ4倍の大きさである場合、点光源条件が得られることが判明した。

【0036】望ましい反射表面27の形状は図8に示した曲線27Aを光学軸45について回転させたもので規定される。点光源をO点とすると、曲線27Aは次の極座標、

$$r(\theta) = R(0) \times (1 - \cos(\theta n)) / 1 - \cos(\theta + \theta n)$$

により説明することが可能であり、ここで $r(\theta)$ はO点源から曲線27Aまでの距離、 θ は励起光線30と光学軸45の間の角度である。角度 θ_0 は光学軸に相関する出射の望ましくは一定となる角度、 $R(0)$ は $\theta=0$ のときのO点源から曲線27Aまでの距離である。

【0037】図9によると、反射表面27が、ある伝播角度範囲に入っている光線についてのみ作用することは明らかである。図示したように、光学軸45に相関して小さい角度で伝播する励起光30Aは直接的に感知ファイバー部分28へと通過する。光学軸に対して比較的大きな角度で伝播する光線30Bは反射表面27で反射し、2回目となりそして感知素子22から屈折して放出される。しかしながら、この伝播角度の拘束条件に入っているものでも、80ないし90%の光線を集めて望ましい角度 θ_0 で感知ファイバー部分28に向けることは困難ではない。

【0038】水中に浸したポリスチレンの導波路において開口数はおよそ0.856である。励起光の伝播角度が臨界角に非常に近くなったとき、最も大きなエバネセント電界強度が創出される。ポリスチレンの600ないし700nm帯域における屈折率は約1.584であり、これは光学軸に相関した臨界角が約32.7であることにつながる。しかしながら実際の設計上の問題として、製造誤差などに伴う調整ズレの効果を補償するためには、より低い伝播角度を使用の方が適切である。臨界角より約2°小さい伝播角度での設計が容易に達成され、満足できる結果が得られている。

【0039】図10は感知素子22の感知ファイバー部分28に入射する光線の累積的角度分布を、市販の光線追跡プログラム、商標登録Opticadによりモデル化して示したものである。モデル化された特定の感知素子は、図11に示した寸法で、直径200ミクロンの供給源ファイバー38を感知素子のレンズ部分24の対面する表面から0.5mm離れた場所に配置して作製されている。モデル化を簡単化するために、供給源ファイバー38が、上限の開口数0.22までの光線角度の均一な分布を有する光線を伝送すると仮定する。

【0040】図11は集積化されたレンズ部分24およびリフレクタ部分26の特定の幾何形状を示したものであり、次のレンズメーカーの等式、

$$z(\text{mm}) = 7.59178h^2 - 1.130917h^4 + 15.184765h^6 - 1.276721h^8 + 3.500005h^{10}$$

で説明することが可能であり、当該技術に携わる者であれば理解されよう。

【0041】図10に示したように、小さい伝播角度の光線画分は全く適量である。大部分の光線は設計の伝播角度（開口数0.81で表示）付近に集中しており、感知素子22のファイバー部分28に射出される84%以上の光線が0.75以上の開口数で表わされる伝播角度を有している。光線の約16%は開口数0.15以下で表わされる伝播角度を有しており、それらの光線は非球面リフレクタ断面26を低伝播角度で通過し、したがってリフレクタ26の作用を受けないで表示されている。

【0042】図4に示されている光源モジュール34に使用される中央部の遮光部56によりさらなる改善が供給される。明らかに、図10は低い伝播角度の光線を実質的にすべてブロックするこの遮光部56の効果を含んでいない。低い伝播角度の光線は実質的にエバネセント電界強度に寄与しないため、検出信号の発生には殆ど価値がない。しかしながら、それは、質問装置40（図6（B）参照）により拒絶すべき、無信号時の顕著なバックグラウンド光の発生源となる可能性がある。このようなバックグラウンドの揺らぎ光は、センサー材料のバルクまたはその中の不純物の軌跡の射出による蛍光、または励起光の質問装置40自体への洩れ、または導波路内部の粒子や導波路表面の不完全さから後方散乱した励起光に由来することがある。フィルター膜66（図7

（A）参照）のような励起光拒絶フィルターは100%の効果をもち得ない。システムから低伝播角度の光を除去することにより、質問装置40における無信号時のバックグラウンド光の量は対応して低くなり、エバネセント電界が表面に結合したフルオロフォアを励起することに与える効果が殆どなくなる。

【0043】図6（B）によると、信号回収光32は質問装置40に入射する前に平行化されることが望ましい。光線が設計の入射角度からおおよそ±10°以上外れた角度で衝突する場合、フィルター膜66（図7（A）参照）の性能は殆どにおいて低下する。蛍光発生プロセスはあらゆるフルオロフォア部分からの均等な光線角度分布を発生するので、広範囲の光線角度分布を平行化して小さく、低ノイズの光検出器に方向付けすることも望ましい。

【0044】比較的低い伝播角度を有する信号回収光32の画分は感知ファイバー28を出て感知素子22のレンズ24を直接的に通過する。これらの光がレンズの焦点付近で感知ファイバー28からあらわれ、それにより平行状態でレンズから出て行くようにレンズ部分24の

表面および軸の配置は実施される。しかしながら、信号回収光32のうち第2の、殆どの場合において、より大きな画分は大きな伝播角度で感知ファイバー部分28から出る。これらの光線の多くは、その後、リフレクタ26の反射表面27に衝突し、これが高い伝播角度の光をレンズ24へと反射し、それから質問装置40内に含まれる光学システムへと入射し、それにより、回収された信号光の実質的部分(それ以外は失われている)を集める。光線モデル化の研究は感知ファイバー28から射出された信号回収光の90%以上が光検出器64に到達することを示している。

【0045】数多くのロングパスまたはバンドパスフィルター設計のいずれもが、臨界波長以上の波長を伝播して臨界波長以下の波長をブロックするか、または周波帯以内を伝播して第2周波帯以上を拒絶可能な光学結晶および薄膜干渉フィルターのようなフィルター膜66に採用可能である。最も単純で最もコスト効果の高いフィルター膜66としては、Optical Coating Laboratories (Santa Barbara, CA) から入手可能な特殊なフィルター特性を有するロングパスダイクロミックフィルターが可能である。しかしながら、付加的な励起のブロッキングは、典型例の周波帯において、フィルター膜66と組み合わせるスペクトル吸収着色フィルターを使用する、例えば、Schott Glass Technologies (Duryea, PA) のRG-645やRG-665シャープカットガラス、またはHoya CorporationのR-62、R-64、R-66またはR-68シャープカットフィルター材料のようなロングパスバルクフィルター、またはレーザー波長で強い吸光度を有して少なくとも蛍光発光周波帯の一部で吸光度の低い有機染料ポリマーから平板67を作製する、ことにより得ることができる。前に検討したように、1種類としての薄膜フィルターは光学軸45に対して急角度をなす光線には効果的ではないが、着色フィルターはそれを補う機能を提供するものである。

【0046】600ないし700nmの周波帯(例えば、638、645、658nm)の市販のソリッドステートレーザーダイオード励起光源46により、約25nm以上でレーザー発光波長を超える波長までにおいて50%の伝播性を示すロングパスフィルターを組み合わせると、励起光揺らぎをおよそ1000~10000の因数で低減することが可能である。この程度の励起のブロッキングレベルが達成されると、残された揺らぎ光レベルは光学的欠陥および材料の不均質性により大きく影響され、レーザーダイオードおよび高い光強度に晒された他の励起光学成分からのラマン成分および強い蛍光を有する。この点でのS/N比は、蛍光発光を防止するために光源34にレーザーバンドパスフィルターを配置すること、導波路材料とその純度を変えること、

感知素子22の光学表面特性を改善すること、光学的質問装置40における強い無信号光レベルを生起しない励起波長に移動させることによる最も効果的な影響を受ける。殆どの誘電性材料について、動作周波帯を長波長に移動させると蛍光および内部的後方散乱は急激に減少する。これらのバックグラウンド効果を超える小さな蛍光信号を検出するためには、したがって安定で効率的な、約600nmないし800nmの周波帯内で発光するフルオロフォアが利用可能な最も長い波長で動作することが好ましい。

【0047】適切な分子の類の1つはアルミニウムフタロシアニン化合物であり、Schindelerらの“Monomeric Phthalocyanine Reagents”というタイトルの米国特許5,494,793に開示されている。適切な分子の類の2番目はMolecular Probes (Eugene, OR) から入手可能なアレクサ・フリュオー (Alexa Fluor) 染料(例えばAlexa Fluor 660および680)である。適切な分子の類の3番目はAmersham Pharmacia Biotech, Inc. (Piscataway, NJ) から入手可能なCyDyeシアニン染料(例えばCY5)である。図12は、生物学的分析のために開発されたこれらの赤色蛍光ラベル4種についてレーザー励起波長を600nmないし700nmの周波帯で変えたときの1分子当たりの相対的蛍光信号強度を示したものである。この比較のために、レーザーとブロッキングフィルターとの間に30nmの光学ギャップを使用した。レーザーダイオードはさまざまなメーカー製の次に示す波長の市販品である。すなわち633nm、635nm、638nm、640nm、645nm、650nm、658nm、670nm、675nm、680nm、685nmおよび690nmである。もちろん他の波長のものも将来は入手可能となり、メーカーは公表されている出力波長と異なる波長を提供するために製品をカスタム選択することができる。それに加えて、発光ダイオードの励起源も薄膜フィルターのような適切なフィルター処理をして使用することが可能であり、これにより最大発光波長をより厳密に規定および限定される。

【0048】こうした理解のうえで、高価でない既製品の励起源を使用した蛍光を基本とするエバネセント波感知システムにおいて最高のS/N比を得るためには、励起波長が660nm以上になると、信号強度が弱くなりかつ利用可能ないくつかのフルオロフォアに約640ないし650nmの励起波長が非常に良くマッチするため、利益がないと図12から結論付けることができ、そして幸運にもこの範囲で多くの材料が利用可能なのである。

【0049】質問装置ウィンドウ60を通り、励起光のフィルター処理済みの光は焦点距離の短いレンズにより

適切な低ノイズ光検出器64に焦点を絞られる。高い集光性能をもつレンズであればいずれも使用可能であり、特に効果的でコンパクトな設計は高屈折率を有する直径1ないし10mmのガラスまたはサファイア球体で構成される。光学品質のサファイア球体はEdmund Scientific (Barrington, NJ) から入手可能である。ソリッドステートフォトダイオードは、小型で電力を消費せず、低ノイズであるため適切な光検出器64である。光検出器64に入射する光はそれから光電流に変換され、これが同期検波のような標準的な小信号の電子的増幅方法を使用して電圧に変換される。6mmのサファイアボールレンズ、低ノイズ光検出器S4707-01 (Hamamatsu, Inc., Bridgewater, NJ)、および同期検波型増幅技術を最適のチョップ周波数135Hzで動作させて使用し、非常に好適な光電流感度0.025pAが実現された。

【0050】以上の検討の多くはエバネセント波に基づくセンサーへの応用に焦点を当てているが、当該技術に携わる者であれば感知素子22が表面プラズモン共鳴センサーにおける利用に適合化できることは理解するであろう。光ファイバーに伝送するためにさまざまな光伝播角度をほぼ一定の伝播角度に変換する能力は、表面プラズモン共鳴技術にとってとりわけ利点がある。当該技術の現在の状態と関連付けて上述したように、現在利用可能な表面プラズモン共鳴センサーのための検出共鳴スペクトルはさまざまな伝播角度で感知ファイバーを伝播する光に伴う共鳴スペクトルを重畳したものである。それに代わって、本質的に単一の伝播角度が使用されるならば、伝播スペクトルにおける共鳴効果はより良く規定され、より簡単に検出され、より良い定量分析を付与する。

【0051】上述した分析システムは、表面プラズモン共鳴感知の動作に使用するために容易に適合化できる。白色光を発生する光源モジュールは、上述した供給源ファイバー38、質問装置40、および質問装置ウィンドウ60と実質的に同じ構成の供給源ファイバー、質問装置、および質問装置ウィンドウにより感知素子22に結合することができる。表面プラズモン共鳴センサーファイバー114が帰還信号光(図1(B)参照)のためのミラー122を有している場合、質問装置40に非常に類似した光学システムが採用できる。もちろん、スペクトルグレーティングおよびアレー検出器(または他の適切な分光学的装置)で光検出器64(図6(B)参照)を置き換え、そしてフィルター66(図7(A)参照)を設計から除外することはできる。

【0052】図4における遮光部56の使用のように、低伝播角度の光を除去することは表面プラズモン共鳴感知の動作にいくつかの利点を提供する。現在使用できる方法では容易に加工できないほど金属膜を薄くする場合

を除いて、低い伝播角度の光は表面プラズモン波を励起しない。図1(B)のミラー122からの後方反射信号光のケースでは、低い伝播角度の光は本質的に信号ノイズであって、測定すべき共鳴効果をばやけさせるものである。感知素子22のリフレクタ部分26は、やはり低い伝播角度の光をより高い伝播角度に調節するものである。

【0053】上述の実施形態を即座に適合化した形態によると、ほぼ一定の伝播角度の開口数の高い光が表面プラズモン波センサーに供給可能となる。図13は、当該技術の現状と比較した(図2(B)と図13の両方を参照)ときの、感知素子22の光学的特徴を採り入れた表面プラズモン共鳴センサーをモデル化した結果を示している。400ミクロンのシリカ光ファイバーコアに厚さ55nmの金の層が施され、ファイバーコアの光学軸に相関する光の伝播角度が $21.60^\circ \pm 0.2^\circ$ の均一分散を有することが想定値として含まれている。2つの曲線の差異は上述した分析システムの適合化による表面プラズモン共鳴技術の顕著な改善を示している。

【0054】図14は4つの感知素子22を採り入れることのできる使い捨て型の射出成型分析カード80を示したものである。軸方向に質問される4つの感知素子22bはタブ82を有しており、これは好ましくはレンズ24、リフレクタ26、および感知ファイバー28が一体構造となっている。タブ82は券80に成型された流路88内に感知素子22を設置することおよび操作することを補助するものである。この実施形態では、励起および信号回収は4つの光学的特徴装置40により提供される。券80には成型流路88をシールするためのカバー84およびカードにサンプルと試薬を導入するための複数の注入針をもつ隔壁90が含まれる。溶液は各流路88および軸方向に配置された感知素子22に分けて配分されるか、または流路88が互いに入り口-出口で接続されて1本の蛇状に曲がりくねった流路を形成することも可能である。少なくとも試薬が互いに交叉反応するのを防止するようにかつ試薬濃度と反応速度が最大化されるように関与する限りにおいては、個々の導波路は分離する方が好ましい。別の選択肢では、複数の導波路28を並列に装着した唯一の溶液チャンバーをカードが有することもある。

【0055】使用に際しては、カード80は、多数流路の溶液制御用ベリスタポンプおよびバッファーや廃液用のリザーバーのような、当該技術に携わる者であれば理解するであろう分析システムの他の補助部品を有する分析ユニット(図15)に挿入される。

【0056】自動装置的动作
感知素子22は、単独にせよあるいはエバネセント波プローブアレーの1素子としてにせよ浸水型の分析プロトコルに理想的に適したものである。浸水型プロトコルは、円筒状導波路のような細長い硬質のセンサーが少な

くともいずれかがターゲット物質を有する1つまたはそれ以上の液体に物理的に浸される処置として定義される。オプションとして、このプロトコルは、洗浄目的、ルミネッセンスを生じさせるため、導波路のエバネセント領域における蛍光の改変または創出のため、または導波路における伝播光パワーの変更のために導波路を追加的な溶液に浸すことも有している。

【0057】多くの分析システムおよびプロトコルは分析カード80に類似した使い捨て型のモジュールを使用し、それには約1ccまたはそれ以下の液体が感知素子アレーを有する液体構造に導入される。しかしながら、ターゲットの病原が低濃度であったり、サンプルが異質性、粘性、または分析装置を汚染する成分を含有するものであるような食品安全、環境および医療応用においては浸水型プロトコルが利点を有している。そのような物質の例には全血、液状便サンプル、汚水、ミルク、およびホモジナイズした肉やソーセージが含まれる。これらのケースでは、使用可能サンプル量は非常に多いが受け入れる病原レベルは非常に低い可能性がある。この環境では、大量のサンプルに対して浸水型の分析を使用し、検出器が容積内のサンプリングパターンをとってサンプリング統計値を向上させる手段を提供することが望ましい。これはまた、制御性を高め、あるいは汚染された媒体が複雑で高価な別な用途に必要な分析流体工学系に広がるのを防止することを可能にする。

【0058】食品、水および環境中のヒトに対する病原を検出することにおける特別な関心事はサンドイッチ形式の蛍光免疫分析である。導波路を基本にした典型的なサンドイッチ型免疫分析では、導波路は図1(A)に示したように、捕捉抗体100のような生物学的識別素子が表面に固定化された単層膜を有する。生物学的識別素子は、当該技術に携わる者が知っているいくつかの技術によってセンサー22に結合されることも可能である。センサー22がポリスチレンで作製されて生物学的識別素子が抗体であるという特定のケースでは、抗体のセンサー表面に対する物理的吸着は強力で安定な都合手段となる。このような単層膜を被覆された導波路は、高温に晒さなければ、何ヶ月もの間その抗体活性を維持できるものである。

【0059】使用に際しては、導波路をまずターゲット抗原を有している可能性のあるサンプル液と1～5分間インキュベートする。洗浄ステップを経た後、この導波路を、フルオロフォアをラベルした抗体と1～5分間インキュベートし、励起光が導波路を通るときに蛍光を発生する抗体/抗原/ラベル化抗体のサンドイッチを形成する。

【0060】サンドイッチ形式の免疫分析をするための自動装置500の実施形態を図16に示す。装置500はロボットアーム501および光学モジュール502の両方がマイクロコントローラ44の制御下に置かれて構

成される。ロボットアーム501は、水平面内で1または2次元方向の動きをして導波路28のアレーを分析に使用する種々の液体が貯蔵されている処理ステーションに運び、垂直方向の動きにより導波路28のアレーを液体に浸水または引き上げる。光学モジュール502は、抗原34および光学的質問装置40から成る1つまたはそれ以上の質問光学系セットを有している。制限のない例では、光学モジュール502において直径約1～10cmの円形パターンの中で60°の間隔で設置された6セットの別々の質問光学系がある。この例では6個の使い捨て型感知素子22が、図17において超音波または接着剤による接着方法を使用して使い捨て型のキャリヤプレート503に装着されていることが示されている。キャリヤプレート503は、好ましくは、黒色に塗装されており、ポリスチレン、PMMA、ポリ塩化ビニル、ABS、ポリカーボネート、または同等のポリマー材料でできており、厚さ0.5～2.0mmで直径約50mmである。別の選択肢としては、キャリヤプレート503および感知素子22アレーは射出成型により一体型の透明部品として作製されることもある。プレート503が光学モジュール502の下側に設置されるとき、核感知素子22の光学軸45は対応する光学的質問装置40と同軸となる。

【0061】サンドイッチ形式の蛍光免疫分析をするための分析実施装置500はロボットアームの下部に分析モジュール504を有することが可能であり、これが個々の分析ステップを実行するための3つのステーション、すなわちサンプルをインキュベートするためのサンプルステーション505、導波路28を洗浄するための洗浄ステーション506、およびフルオロフォアでラベルした抗体試薬液中で導波路28をインキュベートするための試薬ステーション507である。分析を実行するために、まずロボットアーム501が導波路28のアレーをサンプルステーション506に移動させ、このアレー（その各素子は当該技術により捕捉抗体でコーティングされている）を検査対象の液体サンプル510で満たされた約1～500ccの使い捨て型カップ513に浸す。このアレーはサンプル液510中で所定の時間インキュベートされる。この時間の間に、各導波路28はロボットアーム501（または後述する方式）によって所定のパターンで動かされ、それにより統計処理が有効になるようにサンプル容積と接触する。ターゲット物質が1種類だけであることも可能であるため、この例では6つの導波路は同じ捕捉抗体でコーティングされており、サンプル処理量を増加させるために複数ウェルを有するカップホルダー（図示せず）を供給可能なことは明白である。このようなカップホルダーには6つの適切なサイズおよび形状のポケットが供給されていて6つの異なる液体サンプル510を設置できる。

【0062】再び図16に戻ると、このインキュベシ

ョンステップが完了すると、ロボットアーム501が導波路28のアレーを洗浄ステーション506に移動させ、このアレーを、使い捨て型カップまたはマイクロコントローラ44に制御された液により周期的にフラッシュ洗浄されるリザーバー（図示せず）に入れられた洗浄液511、これは0.1%の界面活性剤を有するリン酸バッファー等張液でもよいのであるが、に浸す。サンプル液510の残留物はこのステップにおいて、水平方向の振動パターンでアレーを高速で動かすことにより、すべて洗い流される。抗原抗体反応は十分に強い結合なのでこの物理的な運動がターゲット物質を引き離すことはないが、除去しないと分析に逆効果となる試薬および非特異的に結合しているサンプルを洗い流す。このステップが終わって洗浄液511から引き上げられる前に、それぞれの導波路28は励起光による打診を受け、そしてベースラインが作成される。

【0063】このベースライン測定が完了すると、ロボットアーム501は導波路28のアレーを試薬ステーション507に移動させる。このステーションに配置されているのは、フルオロフォアでラベルした抗体液512a～512fを有する公称値0.1～5ccの6本の使い捨て型バイアルセット515であり、各バイアルは導波路28のアレーの導波路軸に対応した軸を有しており、熱電式加熱／冷却装置または相変化材料のような手段により一定の温度に維持されることが可能である。導波路28のアレーの導波路は異なるターゲット物質に特異的な抗体でコーティングすることも可能であるため、バイアル512aないし512fはそれぞれ異なる抗体試薬を有することも可能である。

【0064】所定時間インキュベートしている間、導波路28のアレーは定期的または連続的に蛍光信号レベルをモニターするための打診を受ける。インキュベーションが完了した後、ロボットアーム501は導波路28のアレーを洗浄ステーション506に移動させ、導波路を浸して振動させながら洗浄し、残留している抗体試薬をすべて除去する。この点で再び信号レベルが測定されることも可能である。

【0065】このプロトコルはターゲット物質の濃度を判定するために少なくとも3つの方法を供給する。ターゲット濃度は、単調にフルオロフォアラベルした試薬液512に浸した後の信号変化速度に相関させることも、フルオロフォアラベルした試薬液512でインキュベートしている間の信号レベルの変化に相関させることも、フルオロフォアラベルした試薬液512でのインキュベーションの前後に洗浄液511中で測定したベースライン信号レベルの変化に相関させることも可能である。第1の方法は初期の応答を得ることができ、第2の方法は高い精度を提供するものであり、第3の技術はより時間が必要とするがフルオロフォアラベルした試薬512が強い蛍光を生じたときでも高感度測定を可能にするもの

である。

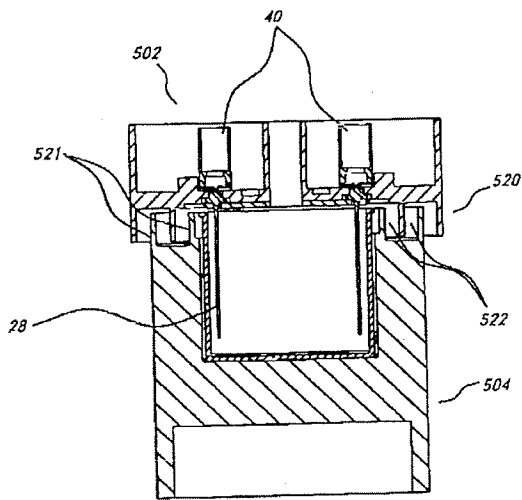
【0066】分析プラットフォーム500上で実施される3段階のルミネッセンスおよび蛍光分析は、光または蛍光を生じる試薬中に浸される前に導波路28から殆どの不純物が洗い流されるため、全血、液状便サンプル、汚水、ミルク、およびホモジナイズした肉および食品のようなやっかいなサンプル中で微量成分を測定するのに充分適しており、最低限のサンプル調製で高感度の測定が可能となる。小径の導波路28の先端部分だけが実際に汚染の可能性のあるサンプルに接し、液は使い捨て型のカップまたはバイアルに入れられる結果、システムは容易にメンテナンスと使用ができる。

【0067】外来の室内光は低レベルの光信号測定に逆効果となってこれを妨害する可能性があり、光を排除する入り組んだシール520を図19に示したように分析モジュール504と光学モジュール502との間に使用することも可能である。このシールには、組み合わせられているが接してはいない環状の壁521を使用し、これらは両方の部分から延びて射出方向に少なくとも上述した洗浄の振動サイクルと同じ距離だけ分離されている。壁を通る軸の分離が最小限になるか、または分析モジュール504の環状のポケットの深さが最大限となると、外来光の干渉は最小限になる。後者は光学的に好ましいがモジュール504を洗浄することがより困難になる可能性がある。制限のない例では、4.6cmの円上で等間隔に配置した感知素子22から成るアレーのために、環状の壁521が厚さ1.5mmで軸方向の長さ1cmであり、射出方向に1cmで軸方向に1.0mm分離している場合、室内光は入り組んだシール520により除去される。インキュベーションおよび洗浄の間で光学モジュール502の分析モジュールに関して側部方向の動きを可能にし、外来光の干渉を最小限にするための他の方法として、黒色エラストマーのベローズ、外部光のシールド、および同期をとった信号検出が含まれる。後者の電子的方法はバックグラウンドの光を解消する補助にはなるがエバネセント分析に伴う低信号レベルでの単一の解決法としては好ましくない。

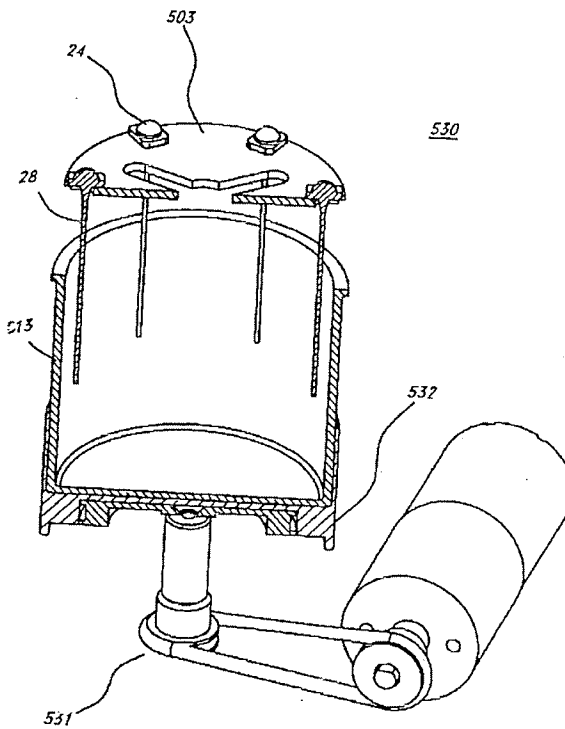
【0068】光感知素子22の幾何形状の特性は浸水型の分析にとって最適である。信号強度と導波路28の浸水深さとの間には直線関係があるが、信号強度と導波路28のサンプル液510表面から上に突き出た量との間には対応関係はない。これは光感知素子22と光学的質問装置40の間のインターフェースは溶液との接点から遠隔にすることが可能であり、インターフェースを光学的にクリーンに保つことが可能なことを意味する。しかしながら、非常に長い導波路は、導波路をあまりにも曲がり易くすることにより物質移動促進方法に悪影響を与える。

【0069】導波路を基本とした浸水型分析の明らかな利点は、顕著な横断流体速度が発生可能なことである。

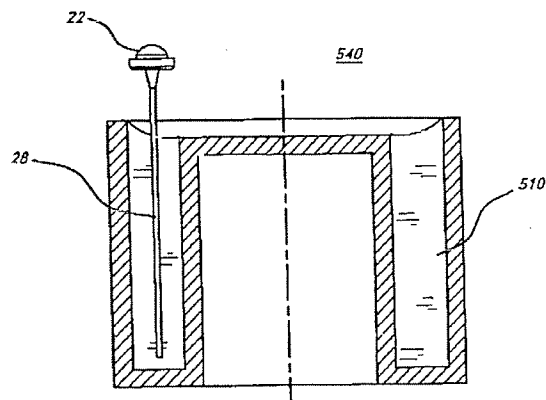
【図19】



【図20】



【図21】



【手続補正書】

【提出日】平成14年2月28日(2002.2.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 サンプル中の分析対象を検出するための光学的分析装置であって、

(a) ソリッドステートの光射出部と、光線成形光学部とを有し、所定範囲の角度に指向され、1もしくは複数の波長の光線が発生するように動作可能な光源モジュールと、

(b) レンズ形状の基端部と、光線再指向部分と、分析感知部分とを有し、この分析感知部分は、円形もしくは楕円形の断面の導波路を有し、前記光線再指向部分は、極座標系で以下の式により規定された曲線に対応する形状の反射表面を有し、

$$r(\theta) = R(0) \times (1 - \cos(\theta n)) / 1 - \cos(\theta + \theta n)$$

前記光線再指向部分は、入射光線をほぼ一定の角度の光線に反射し、また、前記導波路は、フクロシアニン、アレキサ・フリュオー、もしくはシアニンベースの材料からなる蛍光体を含むセンサー分子のコーティングを有し、600nmないし800nmの周波帯内で発光可能であり、前記反射表面で反射された前記光線は、これに伝達したエバネッセント電界を前記センサー分子のコーティング中に発生させる、光感知部材と、

(c) 前記光源モジュールと、光感知部材とに光学的に結合され、光源モジュールから質問光線を光感知部材に連続して案内すると共に、光感知部材により射出される蛍光信号を受ける質問モジュールとを具備し、この質問モジュールは、前記質問光線を前記光感知部材に通す光伝達部分と、信号受け部分とを有し、この信号受け部分は、外側窓と、質問光線よりも長い波長の光線を通し、質問光線の約99.9%以上をブロックするフィルターと、このフィルターを通った光線を受光する光検出器とを有する装置。

【請求項2】 前記フィルターは、レーザー線減衰フィルター膜、ロングパスダイクロミックフィルター膜、スペクトル吸収バルクフィルター、着色ガラスバルクフィルター、着色ポリマーバルクフィルター、およびロングパスフィルターを提供するフィルター膜とバルクフィルターとの組み合わせとのうちの少なくとも1つである請求項1に記載した装置。

【請求項3】 前記フィルターは、質問光線の波長よりも約25nm以上長い波長の光線に対して約50%以上の透過性を有する請求項1もしくは2に記載したシステム。

【請求項4】 前記光源モジュールは、前記エバネッセント電界中の蛍光体分子当たり最大の光信号を射出するよう選択された波長の光線を発生するように動作可能である請求1ないし3のいずれか1に記載した装置。

【請求項5】 前記光源モジュールは、640ないし665nmの波長帯域の光線を発生するように動作可能である請求項1ないし4のいずれか1に記載した装置。

【請求項6】 浸水型のプロトコルを使用して分析を実行するための自動システムであって、ロボットステージと、所定範囲の伝播角度を有する光線を発生するように動作可能な少なくとも1つの光源モジュールと、前記ロボットステージに装着され、前記光源モジュールにより発生された光線を受光するように光源モジュール

に光学的に結合された少なくとも1つのセンサーであって、センサーは、光調節部分と分析感知部分とを有し、この光調節部分は、前記光源モジュールにより発生された光線を受けて、実質的に一定の伝播角度の光線に対応する分析感知部分に供給し、また、この分析感知部分は、円形もしくは楕円形系の断面の導波路を有し、この導波路は、センサー分子のコーティングを有し、実質的に一定の伝播角度を有する光線は、前記導波路を通じて、前記センサー分子のコーティング内にエバネッセント電界を発生させ、さらに、前記分析感知部分は、エバネッセント電界に対応する、センサー分子コーティングから射出する光線を集める、センサーと、前記センサーと光学的に結合されて、前記センサー分子コーティングから射出され、集められた光線を受けるように動作する少なくとも1つの質問モジュールと、サンプル溶液を含む複数の溶液を夫々収容した複数のコンテナと、を具備し、前記ロボットステージは、前記少なくとも1つのセンサーを1つのコンテナから他のコンテナへと、移動させ、かくして、分析が行なわれている間に溶液を移動させる必要性を無くしたシステム。

【請求項7】 前記ステージは、2軸もしくは3軸移動ステージである請求項6に記載したシステム。

【請求項8】 前記導波路のセンサー分子コーティングと、前記複数のコンテナの1つに収容された溶液中の反応物との反応は、導波路とこの周りの溶液との間に相対移動を生じさせることにより、質量輸送境界層を薄くすることで、増加される請求項6もしくは7に記載したシステム。

【請求項9】 前記質量輸送境界層の厚さは、前記導波路の長軸に対して直角方向に溶液中で導波路を振動させることにより減じられる請求項8に記載したシステム。

【請求項10】 質量輸送境界層の厚さは、前記複数のコンテナのうちの少なくとも1つのコンテナ内の溶液を回転させて、前記導波路の長軸に対して直角の溶液の流れを生じさせることにより、減じられる請求項8に記載したシステム。

【請求項11】 前記導波路をコンテナ内の大量のサンプル溶液に晒すことにより希釈分析対象にとってサンプル統計値および分析感度が向上する請求項6に記載したシステム。

【請求項12】 サンプル溶液を含む前記コンテナは、中に前記導波路が浸漬された状態で、溶液を回転させる外部ドライブにより回転されるカップを有している請求項11に記載したシステム。

【請求項13】 前記サンプル溶液は、内部のスターラーにより混合かつ循環させられる請求項11に記載したシステム。

【請求項14】 前記センサーは、円周上に互いに離間して配設された複数のセンサーである請求項6ないし13のいずれか1に記載したシステム。

【請求項15】 前記センサーは、一直線上に互いに離間して配設された複数のセンサーである請求項6ないし13のいずれか1に記載したシステム。

【請求項16】 前記複数のコンテナの少なくとも1つは、光封止シールを形成するためのバッフルを有している請求項6に記載したシステム。

【請求項17】 前記センサーは、複数であり、1つの質問モジュールが、対応した導波路のセンサー分子のコーティングから射出されて、集められた光線を受けるに複数のセンサーに共通して光学的に結合されている請求項6に記載したシステム。

【請求項18】 前記センサーと質問モジュールとは、夫々複数であり、各質問モジュールは、対応した導波路のセンサー分子のコーティングから射出されて、集められた光線を受けるに各センサーに光学的に結合されている請求項6に記載したシステム。

【請求項19】 浸水型のプロトコルを使用して、物質についてサンプルを分析する方法であって、

- (a) 光学的分析装置を準備する工程と、
- (b) 分析が行なわれている間に、溶液を移動させる必要性を無くすように、前記光学的分析装置を、少なくとも

も一方がサンプル溶液である第1の溶液から第2の溶液へと移動させる工程と、を具備し、前記光学的分析装置は、

(i) 所定の範囲内の伝播角度を有する光線が発生させる光源モジュールと、

(ii) この光源モジュールにより発生された光線を受けるように設けられ、光調節部分と分析感知部分とを有し、この光調節部分は、前記光源モジュールにより発生された光線を受けて、実質的に一定の伝播角度の光線に対応する分析感知部分に供給し、また、この分析感知部分は、円形もしくは楕円形系の断面の導波路を有し、この導波路は、センサー分子のコーティングを有し、実質的に一定の伝播角度を有する光線は、前記導波路を通過して、センサー分子のコーティング内にエバネッセント電界を発生させ、さらに、前記分析感知部分は、エバネッセント電界に対応する、センサー分子コーティングから射出する光線を集める、センサーとを有する、方法。

【請求項20】 前記第1の溶液は、サンプル溶液であり、また前記第2の溶液は、蛍光体でラベルした試薬溶液である請求項19に記載した方法。

フロントページの続き

(72)発明者 エリック・ダブリュ・サースキ
アメリカ合衆国、ワシントン州 98021
ボテル、サーティナインス・アベニュー
エスイー-24133

Fターム(参考) 2G043 AA01 BA16 CA03 DA05 EA01
GA02 GA04 GA07 GB01 GB03
GB19 HA01 HA05 JA03 KA02
KA05 KA09 LA01 MA01
2G054 AA06 CE02 EA03 FA19 FA27
GA05
2G058 AA09 CC11 DA07 GA06